

## PATENT COOPERATION TREATY

**PCT**

**NOTIFICATION OF TRANSMITTAL  
OF COPIES OF TRANSLATION  
OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT**

(PCT Rule 72.2)

## From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TANIGAWA, Hidejiro  
 Tanigawa and Associates  
 Iwata Building, 6F  
 5-12, Iidabashi 4-chome  
 Chiyoda-ku  
 Tokyo 102-0072  
 JAPON

Date of mailing (day/month/year) 15 May 2001 (15.05.01)	
Applicant's or agent's file reference 99PF187-PCT	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
International application No. PCT/JP99/03427	International filing date (day/month/year) 25 June 1999 (25.06.99)
Applicant KYOWA MEDEX CO., LTD. et al	

**1. Transmittal of the translation to the applicant.**

The International Bureau transmits herewith a copy of the English translation made by the International Bureau of the international preliminary examination report established by the International Preliminary Examining Authority.

**2. Transmittal of the copy of the translation to the elected Offices.**

The International Bureau notifies the applicant that copies of that translation have been transmitted to the following elected Offices requiring such translation:

EP,AU,CA,CN,CZ,NO,NZ,PL,RO,SK,US

The following elected Offices, having waived the requirement for such a transmittal at this time, will receive copies of that translation from the International Bureau only upon their request:

EA,BG,BR,HU,ID,IL,IN,KR,MX,SG,SI,UA,VN,ZA

**3. Reminder regarding translation into (one of) the official language(s) of the elected Office(s).**

The applicant is reminded that, where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the International preliminary examination report.

It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned (Rule 74.1). See Volume II of the PCT Applicant's Guide for further details.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  Elliott Peretti
Facsimile No. (41-22) 740.14.36	Telephone No. (41-22) 338.83.38

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED  
OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TANIGAWA, Hidejiro  
 Tanigawa and Associates  
 Iwata Building, 6F  
 5-12, Iidabashi 4-chome  
 Chiyoda-ku  
 Tokyo 102-0072  
 JAPON

Date of mailing (day/month/year)  
 04 January 2001 (04.01.01)

Applicant's or agent's file reference  
 99PF187-PCT

## IMPORTANT INFORMATION

International application No.  
 PCT/JP99/03427

International filing date (day/month/year)  
 25 June 1999 (25.06.99)

Priority date (day/month/year)

Applicant  
 KYOWA MEDEX CO., LTD. et al

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

EP :AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE  
 National :AU,BG,CA,CN,CZ,IL,KR,NO,NZ,PL,RO,SK,US

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

EA :AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM  
 National :BR,HU,ID,IN,MX,SG,SI,UA,VN,ZA

3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the international application (Article 38(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 36(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The entry into the European regional phase is postponed until 31 months from the priority date for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

The International Bureau of WIPO  
 34, chemin des Colombettes  
 1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No. (41-22) 338.83.38

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

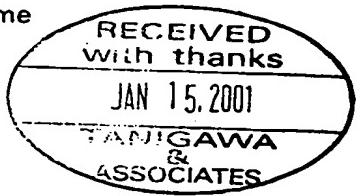
## NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TANIGAWA, Hidejiro  
 Tanigawa and Associates  
 Iwata Building, 6F  
 5-12, Iidabashi 4-chome  
 Chiyoda-ku  
 Tokyo 102-0072  
 JAPON



Date of mailing (day/month/year) 04 January 2001 (04.01.01)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference 99PF187-PCT			
International application No. PCT/JP99/03427	International filing date (day/month/year) 25 June 1999 (25.06.99)	Priority date (day/month/year)	
Applicant KYOWA MEDEX CO., LTD. et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:  
AU,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the International application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:  
BG,BR,CA,CN,CZ,EA,EP,HU,ID,IL,IN,MX,NO,NZ,PL,RO,SG,SI,SK,UA,VN,ZA

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 04 January 2001 (04.01.01) under No. WO 01/01145

**REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)**

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

**REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))**

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.36	Telephone No. (41-22) 338.83.38

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 特許協力条約

E P

P C T



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 99PF187-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/03427	国際出願日 (日.月.年)	25.06.99
出願人(氏名又は名称) 協和メデックス株式会社		優先日 (日.月.年)

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。 この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎
  - a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
  この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。
  - b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
  この国際出願に含まれる書面による配列表
  この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
  出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表
  出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
  出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
  書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。
2.  請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。
3.  発明の單一性が欠如している(第II欄参照)。
4. 発明の名称は  出願人が提出したものと承認する。  
 次に示すように国際調査機関が作成した。

---

5. 要約は  出願人が提出したものと承認する。  
 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1ヶ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。
6. 要約書とともに公表される図は、  
 第 \_\_\_\_\_ 図とする。  出願人が示したとおりである.  なし  
 出願人は図を示さなかった。  
 本図は発明の特徴を一層よく表している。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. G01N33/552, 33/551, 33/543

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. G01N33/552, 33/551, 33/543

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-1999年
日本国登録実用新案公報	1994-1999年
日本国実用新案登録公報	1996-1999年

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 4-279664, A (ローヌープーラン・シミ) 5. 10月. 1992 (05. 10. 92) & EP, 436450, A	1~17
Y	JP, 4-356527, A (ローヌープーラン・シミ) 10. 12月. 1992 (10. 12. 92) & EP, 435785, A	1~17
Y	JP, 4-232858, A (ベーリンガー マンハイム ゲゼル シャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング) 21. 8月. 1992 (21. 08. 92) & EP, 468481, A	14~17

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

27. 08. 99

## 国際調査報告の発送日

07.09.99

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官 (権限のある職員)

亀田 宏之

2 J 9015



電話番号 03-3581-1101 内線 3252

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 6-123739, A (ダイキン工業株式会社) 6. 5月. 1994. (06. 05. 94) (ファミリーなし)	14~17

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

特許協力条約に基づく国際出願

願書

本願人は、以下の「国際特許出願」を特許協力条約に従って提出されることを請求する。

PCT 25.6.99 受領印	
日本 依頼 25.6.99	(受付印)
出願人又は代理人の番号 (希望する場合、最大12字) 99PF187-PCT	

第Ⅰ 特願 送り物の名称:

免疫測定用担体及びそれを用いた免疫測定用固相

第Ⅱ 特願 出願人

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

協和メデックス株式会社 KYOWA MEDEX CO., LTD.

〒104-0042 東京都中央区入船二丁目1番1号

1-1, Irihane 2-chome, Chuo-ku, Tokyo 104-0042 Japan

この欄に記載した者は、  
発明者である。

電話番号:

03-3297-8101

ファクシミリ番号:

加入電信番号:

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の  
指定国についての出願人である:  
 すべての指定国  米国を除くすべての指定国  米国のみ  追記欄に記載した指定国

第Ⅲ 特願 その他の出願人又は代理人

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は  
次に該当する:

熊沢 俊明 KUMAZAWA Toshiaki

出願人のみである。

〒192-0031 日本国東京都八王子市小宮町51  
株式会社エスアールエル八王子ラボラトリー内

出願人及び発明者である。

c/o Hachioji Laboratories of SRL, INC.  
51, Komiya-cho, Hachioji-shi, Tokyo 192-0031 JAPAN

発明者のみである。  
(ごとに別用をせしときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の  
指定国についての出願人である:  
 すべての指定国  米国を除くすべての指定国  米国のみ  追記欄に記載した指定国

その他の出願人又は発明者が枚葉に記載されている。

第Ⅳ 特願 代理人又は共同の代表者、通知のあて名

次に記載された者は、国際機関において出願人のために行動する:

代理人

共通の代表者

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

電話番号:

03-3238-9182

ファクシミリ番号:

03-3238-9183

加入電信番号:

8854 弁理士 谷川 英次郎 TANIGAWA Hidejiro

〒102-0072 日本国東京都千代田区飯田橋4丁目5番12号岩田ビル6階  
谷川国際特許事務所

TANIGAWA AND ASSOCIATES, 6F, Iwata Bldg., 5-12, Iidabashi  
4-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0072 JAPAN

通知のためのあて名: 代理人又は共同の代表者が選択されておらず、上記欄内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

2-3-11 人物の記載 その他の出願人又は発明者		
<p>この結果を使用しないときは、この用紙に記載に含めないこと。</p> <p>氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）</p> <p>田上 浩明 TAGAMI Hiroaki</p> <p>〒192-0031 日本国東京都八王子市小宮町51 株式会社エスアールエル八王子ラボラトリー内</p> <p>c/o Hachioji Laboratories of SRL, INC., 51, Komiya-cho, Hachioji-shi, Tokyo 192-0031 JAPAN</p>		<p>この欄に記載した者は、次に該当する：</p> <p><input type="checkbox"/> 山船人のみである。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 川船人及び発明者である。</p> <p><input type="checkbox"/> 発明者のみである。 (ここにレ印を付したときは、以下に入れないこと)</p>
国籍（国名）： 日本国 JAPAN	住所（国名）： 日本国 JAPAN	
<p>この欄に記載した者は、次の 指定国についての出願人である：</p> <p>氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）</p> <p>木谷 孔保 KIYA Yoshiyasu</p> <p>〒192-0031 日本国東京都八王子市小宮町51 株式会社エスアールエル八王子ラボラトリー内</p> <p>c/o Hachioji Laboratories of SRL, INC., 51, Komiya-cho, Hachioji-shi, Tokyo 192-0031 JAPAN</p>		<p>この欄に記載した者は、次に該当する：</p> <p><input type="checkbox"/> 出願人のみである。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 出願人及び発明者である。</p> <p><input type="checkbox"/> 発明者のみである。 (ここにレ印を付したときは、以下に入れないこと)</p>
国籍（国名）： 日本国 JAPAN	住所（国名）： 日本国 JAPAN	
<p>この欄に記載した者は、次の 指定国についての出願人である：</p> <p>氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）</p> <p>横浜 裕明 YOKOHAMA Hiroaki</p> <p>〒411-0932 日本国静岡県駿東郡長泉町南一色字上山地600番1 協和メデックス株式会社 協和メデックス研究所内</p> <p>c/o Kyowa Medex Research Laboratories, KYOWA MEDEX CO., LTD., 600-1, Aza-Kamiyamaji, Minamiishiki, Nagaizumi-cho, Sunto-gun, Shizuoka 411-0932 Japan</p>		<p>この欄に記載した者は、次に該当する：</p> <p><input type="checkbox"/> 出願人のみである。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 出願人及び発明者である。</p> <p><input type="checkbox"/> 発明者のみである。 (ここにレ印を付したときは、以下に入れないこと)</p>
国籍（国名）： 日本国 JAPAN	住所（国名）： 日本国 JAPAN	
<p>この欄に記載した者は、次の 指定国についての出願人である：</p> <p>氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）</p> <p>森 秀治 MORI Hideharu</p> <p>〒411-0932 日本国静岡県駿東郡長泉町南一色字上山地600番1 協和メデックス株式会社 協和メデックス研究所内</p> <p>c/o Kyowa Medex Research Laboratories, KYOWA MEDEX CO., LTD., 600-1, Aza-Kamiyamaji, Minamiishiki, Nagaizumi-cho, Sunto-gun, Shizuoka 411-0932 Japan</p>		<p>この欄に記載した者は、次に該当する：</p> <p><input type="checkbox"/> 出願人のみである。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 出願人及び発明者である。</p> <p><input type="checkbox"/> 発明者のみである。 (ここにレ印を付したときは、以下に入れないこと)</p>
国籍（国名）： 日本国 JAPAN	住所（国名）： 日本国 JAPAN	
<p>この欄に記載した者は、次の 指定国についての出願人である：</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> その他の出願人又は発明者が他の紙面に記載されている。</p>		<p>この欄に記載した者は、次に該当する：</p> <p><input type="checkbox"/> 米国のみ</p> <p><input type="checkbox"/> 追記欄に記載した指定国</p>

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 第3回の手続き その1出願人又は発明者

この記入を使用しないときは、この用紙を廃棄に含めないこと。

氏名（姓名）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）  
**松森 繁 MATSUMORI Shigeru**

この欄に記載した者は、  
次に該当する：

- 出願人のみである。  
 出願人及び発明者である。  
 発明者のみである。  
 (ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

〒411-0932 日本国静岡県駿東郡長泉町南一色字上山地600番1  
協和メデックス株式会社 協和メデックス研究所内

c/o Kyowa Medex Research Laboratories,  
 KYOWA MEDEX CO., LTD.,  
 600-1, Aza-Kamiyamaji, Minamiishiki, Nagaizumi-cho,  
 Sunto-gun, Shizuoka 411-0932 Japan

国籍（国名）： 日本国 JAPAN

住所（国名）： 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の

- すべての指定国  米国を除くすべての指定国  米国のみ  追記欄に記載した指定国

指定期についての出願人である： 氏名（姓名）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）

この欄に記載した者は、  
次に該当する：

- 出願人のみである。  
 出願人及び発明者である。  
 発明者のみである。  
 (ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍（国名）：

住所（国名）：

この欄に記載した者は、次の  
指定期についての出願人である：

- すべての指定国  米国を除くすべての指定国  米国のみ  追記欄に記載した指定国

氏名（姓名）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）

この欄に記載した者は、  
次に該当する：

- 出願人のみである。  
 出願人及び発明者である。  
 発明者のみである。  
 (ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍（国名）：

住所（国名）：

この欄に記載した者は、次の  
指定期についての出願人である：

- すべての指定国  米国を除くすべての指定国  米国のみ  追記欄に記載した指定国

氏名（姓名）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）

この欄に記載した者は、  
次に該当する：

- 出願人のみである。  
 出願人及び発明者である。  
 発明者のみである。  
 (ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍（国名）：

住所（国名）：

この欄に記載した者は、次の  
指定期についての出願人である：

- すべての指定国  米国を除くすべての指定国  米国のみ  追記欄に記載した指定国

 その他の出願人又は発明者が他の機関に記載されている。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

卷之三

規則 4. リンクの規定に基づき次の措定を行う(該当する口にレポートすること: 少なくとも1つの口にレポートすること)。

خواسته خان

- H** **HRV** [本邦書名] : GH ガーナ Ghana, CM ガンビア Gambia, KE ケニア Kenya, LS レソト Lesotho, MW マラウイ Malawi, SD スーダン Sudan, SZ スワジランド Swaziland, UC ウガンダ Uganda, ZW ジンバブエ Zimbabwe, 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締約国である他の国

**L** **LA** [本邦書名] : AM アルメニア Armenia, AZ アゼルバイジャン Azerbaijan, BY ベラルーシ Belarus, KG キルギス Kyrgyzstan, KZ カザフスタン Kazakhstan, MD モルドヴァ Republic of Moldova, RU ロシア Russian Federation, TJ タジキスタン Tajikistan, TM トルクメニスタン Turkmenistan, 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締約国である他の国

**L** **LI** [本邦書名] : AT オーストリア Austria, BE ベルギー Belgium, CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein, CY キプロス Cyprus, DE ドイツ Germany, DK デンマーク Denmark, ES スペイン Spain, FI フィンランド Finland, FR フランス France, GB 英国 United Kingdom, GR ギリシャ Greece, IE アイルランド Ireland, IT イタリア Italy, LU ルクセンブルグ Luxembourg, MC モナコ Monaco, NL オランダ Netherlands, PT ポルトガル Portugal, SE スウェーデン Sweden, 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国

**O** **OA** **OAPI** [本邦書名] : BF ブルキナ・ファソ Burkina Faso, BJ ベナン Benin, CA 中央アフリカ Central African Republic, CG コンゴ Congo, CI コートジボアール Côte d'Ivoire, CM カメルーン Cameroon, GA ガボン Gabon, GN ギニア Guinea, GW ギニア・ビサオ Guinea-Bissau, ML マリ Mali, MR モーリタニア Mauritania, NE ニジェール Niger, SN ヌエバガル Senegal, TD チャード Chad, TG トーゴ Togo, 及びアフリカ知的所有権機構のメンバー国と特許協力条約の締約国である他の国 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には別途上に記載する)

【国内発送時に（他の種類の仮想又は仮想+を含む）場合には当欄上に記載する】

- |                                     |   |  |
|-------------------------------------|---|--|
| <input type="checkbox"/>            | A L   | アルバニア Albania  |
| <input type="checkbox"/>            | A M   | アルメニア Armenia  |
| <input type="checkbox"/>            | A T   | オーストリア Austria   |
| <input checked="" type="checkbox"/> | A U   | オーストラリア Australia  |
| <input type="checkbox"/>            | A Z   | アゼルバイジャン Azerbaijan  |
| <input type="checkbox"/>            | B A   | ボスニア・ヘルツェゴビナ Bosnia and Herzegovina                          |
| <input type="checkbox"/>            | B B   | バルバドス Barbados   |
| <input checked="" type="checkbox"/> | B G   | ブルガリア Bulgaria   |
| <input checked="" type="checkbox"/> | B R   | ブラジル Brazil  |
| <input type="checkbox"/>            | B Y   | ベラルーシ Belarus  |
| <input checked="" type="checkbox"/> | C A   | カナダ Canada   |
| <input type="checkbox"/>            | C E-I   | スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> | C N   | 中国 China   |
| <input type="checkbox"/>            | C U   | キューバ Cuba  |
| <input checked="" type="checkbox"/> | C Z   | チェコ Czech Republic   |
| <input type="checkbox"/>            | D E   | ドイツ Germany  |
| <input type="checkbox"/>            | D K   | デンマーク Denmark  |
| <input type="checkbox"/>            | E E   | エストニア Estonia  |
| <input type="checkbox"/>            | E S   | スペイン Spain   |
| <input type="checkbox"/>            | F I   | フィンランド Finland   |
| <input type="checkbox"/>            | G B   | 英國 United Kingdom  |
| <input type="checkbox"/>            | G D   | グレナダ Grenada   |
| <input type="checkbox"/>            | G E   | グルジア Georgia   |
| <input type="checkbox"/>            | G H   | ガーナ Ghana  |
| <input type="checkbox"/>            | G M   | ガンビア Gambia  |
| <input type="checkbox"/>            | I-I R   | クロアチア Croatia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> | H U   | ハンガリー Hungary  |
| <input type="checkbox"/>            | I D   | インドネシア Indonesia   |
| <input checked="" type="checkbox"/> | I L   | イスラエル Israel   |
| <input type="checkbox"/>            | I N   | インド India  |
| <input type="checkbox"/>            | I S   | アイスランド Iceland   |
| <input type="checkbox"/>            | J P   | 日本 Japan   |
| <input type="checkbox"/>            | K E   | ケニア Kenya  |
| <input type="checkbox"/>            | K G   | キルギス Kyrgyzstan  |
| <input type="checkbox"/>            | K I   | 北朝鮮 Democratic People's Republic of Korea                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> | K R   | 韓国 Republic of Korea   |
| <input type="checkbox"/>            | K Z   | カザフスタン Kazakhstan  |
| <input type="checkbox"/>            | L C   | セント・ルシア Saint Lucia  |
| <input type="checkbox"/>            | L K   | スリ・ランカ Sri Lanka   |
| <input type="checkbox"/>            | L R   | リベリア Liberia   |
| <input type="checkbox"/>            | L S   | レソト Lesotho  |
| <input type="checkbox"/>            | L T   | リトアニア Lithuania  |
| <input type="checkbox"/>            | L U   | ルクセンブルグ Luxembourg   |
| <input type="checkbox"/>            | L V   | ラトヴィア Latvia   |
| <input type="checkbox"/>            | MD  | モルドヴァ Republic of Moldova                                    |
| <input type="checkbox"/>            | MG  | マダガスカル Madagascar  |
| <input type="checkbox"/>            | MK  | マケドニア旧ユーゴースラヴィア共和国 The former Yugoslav Republic of Macedonia |
| <input type="checkbox"/>            | M N   | モンゴル Mongolia  |
| <input type="checkbox"/>            | M W   | マラウイ Malawi  |
| <input checked="" type="checkbox"/> | M X   | メキシコ Mexico  |
| <input checked="" type="checkbox"/> | N O   | ノールウェー Norway  |
| <input type="checkbox"/>            | N Z   | ニュージーランド New Zealand   |
| <input type="checkbox"/>            | P L   | ポーランド Poland   |
| <input type="checkbox"/>            | P T   | ポルトガル Portugal   |
| <input checked="" type="checkbox"/> | R O   | ルーマニア Romania  |
| <input type="checkbox"/>            | R U   | ロシア Russian Federation                                       |
| <input type="checkbox"/>            | S D   | スーダン Sudan   |
| <input type="checkbox"/>            | S E   | スウェーデン Sweden  |
| <input checked="" type="checkbox"/> | S G   | シンガポール Singapore   |
| <input type="checkbox"/>            | S I   | スロヴェニア Slovenia  |
| <input type="checkbox"/>            | S K   | スロ伐キア Slovakia   |
| <input type="checkbox"/>            | S L   | シエラ・レオネ Sierra Leone   |
| <input type="checkbox"/>            | T J   | タジキスタン Tajikistan  |
| <input type="checkbox"/>            | T M   | トルクmenistan Turkmenistan                                     |
| <input type="checkbox"/>            | T R   | トルコ Turkey   |
| <input type="checkbox"/>            | T T   | トリニダード・トバゴ Trinidad and Tobago                               |
| <input checked="" type="checkbox"/> | U A   | ウクライナ Ukraine  |
| <input type="checkbox"/>            | U G   | ウガンダ Uganda  |
| <input checked="" type="checkbox"/> | U S   | 米国 United States of America                                  |
| <input type="checkbox"/>            | U Z   | ウズベキスタン Uzbekistan   |
| <input checked="" type="checkbox"/> | V N   | ヴィエトナム Viet Nam  |
| <input type="checkbox"/>            | Y U   | ユーゴ・スラヴィア Yugoslavia   |
| <input type="checkbox"/>            | Z W   | ジンバブエ Zimbabwe   |
| <input type="checkbox"/>            | 以下の国は、この様式の施行後に特許協力条約の締約国となった国を指定(国内特許のために)するためのものである |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> | Z A   | 南アフリカ共和国 South Africa  |

下の口は、この様式の施行後に特許協力条約の協約国となった日を指定（日本内特許のために）するためのものである

- ZA 南アフリカ共和国...South Africa.....  
.....  
.....

指定の権限の行使：当願人は、上記の指定期に加えて、規則 4、9(b)の規定に基づき、特許協力条約の下で認められる他の全ての国での指定を行う。ただし、この宣言から除外する表示を追記欄にした場合は、指定から除外される。当願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から 1 ヵ月が経過する前にその確認がなされない場合は、この期間の経過時に、当願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。（指定の権限は、指定を新規する通知書提出と新規実質審査請求書提出の両方からなる。この宣言は、審査から 1 ヵ月以内に當理官署へ提出しなければならない。）

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

他の優先権の主張（先の出願）が追記欄に記載されている

先の出願日 (日、月、年)	先の出願番号	先の出願		
		国内出願：国名	広域出願：*広域官庁名	国際出願：受理官庁名
(1)				
(2)				
(3)				

上記( )の番号の先の出願（ただし、本国際出願が提出されるる受理官庁において提出されたものに限る）のうち、次の( )の番号のものについては、出願書類の認証原本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁（日本国特許庁の長官）に対して請求している。

\*先の出願が、ARIPOの特許出願である場合は、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約加盟国の少なくとも1ヶ国を追記欄に表示しなければならない。（規則4、10(b)(ii)。追記欄を参照。）

## 第5VII項 国際出願の提出機関

提出機関の種類 (ISA) の選択	当該提出機関の平日用語と : 当該提出機関の料金 (先の調査が、国際調査機関によって既に実施又は請求されている場合)
ISA/JP	出願日 (日、月、年) 出願番号 国名 (又は広域官庁)

## 第6VIII項 特許合意書 : 本件の言語

この国際出願の用紙の枚数は次のとおりである。	この国際出願には、以下にチェックした書類が添付されている。
顧客 ..... 5 枚	1. <input checked="" type="checkbox"/> 手数料計算用紙
明細書 (配列表を除く) ..... 14 枚	5. <input type="checkbox"/> 依存権書類 (上記第VI欄の( )の番号を記載する)
請求の範囲 ..... 2 枚	2. <input checked="" type="checkbox"/> 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面
要約書 ..... 1 枚	3. <input checked="" type="checkbox"/> 国際事務局の口座への振込みを証明する書面
図面 ..... 枚	4. <input type="checkbox"/> 別個の記名押印された委任状
明細の配列表 ..... 枚	6. <input type="checkbox"/> 包括委任状の写し
合計 22 枚	7. <input type="checkbox"/> 寄託した微生物又は他の生物材料に関する書面
要約書とともに提示する図面 :	8. <input type="checkbox"/> ヌクレオチド又はアミノ酸配列リスト (フレキシブルディスク)
	9. <input type="checkbox"/> その他 (書類名を詳細に記載する)

要約書とともに提示する図面 : 本国際出願の使用言語名 : 日本語

## 第7IX項 提出者の自己印

各人の氏名 (名称) を記載し、その式に押印する。

谷川 英次郎

## 1. 国際出願として提出された書類の実際の受理の日

## 3. 国際出願として提出された書類を補充する書類又は図面であって

その後期間内に提出されたものの実際の受理の日 (訂正日)

## 4. 特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補充の期間内の受理の日

## 5. 出願人により特定された

ISA/JP

6.  調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない

## 2. 図面

 受理された 不足図面がある

## 記録原本の受理の日

様式PCT/RO/101 (最終用紙) (1998年7月:再版1999年1月)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

15  
T

## 特許協力条約

PCT

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
(PCT36条及びPCT規則70)

REC'D 24 MARS 2000

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 99PF187-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/03427	国際出願日 (日.月.年) 25.06.99	優先日 (日.月.年)
国際特許分類 (IPC)	Int. C17G01N33/552, 33/551, 33/543	
出願人（氏名又は名称） 協和メデックス株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条（PCT36条）の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。

この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対して訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で        ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I  国際予備審査報告の基礎
- II  優先権
- III  新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV  発明の単一性の欠如
- V  PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI  ある種の引用文献
- VII  国際出願の不備
- VIII  国際出願に対する意見

✓

国際予備審査の請求書を受理した日 25.06.99	国際予備審査報告を作成した日 10.03.00
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 亀田 宏之 電話番号 03-3581-1101 内線 3252
	2J 9015

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲	1 ~ 17	有
請求の範囲		無

進歩性 (I S)

請求の範囲	10 ~ 13	有
請求の範囲	1 ~ 9、14 ~ 17	無

産業上の利用可能性 (I A)

請求の範囲	1 ~ 17	有
請求の範囲		無

## 2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

## 請求の範囲 1 ~ 9

文献1 : J P, 4-279664, A (ローヌープーラン・シミ) 5. 10月. 1  
992 (05. 10. 92)

文献2 : J P, 4-356527, A (ローヌープーラン・シミ) 10. 12月.  
1992 (10. 12. 92)

文献1には、免疫測定用担体としてオルガノポリシロキサンが記載されており、文献2には、オルガノヒドログノポリシロキサンが記載されている。  
基体上にコーティングしたものは当業者にとって自明である。

## 請求の範囲 10 ~ 13

基体として、ガラス・石英・セラミックスや、多孔性であることは国際調査報告で列記したいずれの文献にも記載されておらず当業者にとって自明でもない。

## 請求の範囲 14 ~ 17

文献3 : J P, 4-232858, A (ベーリンガー マンハイム ゲゼルシャフト  
ミット ベシュレンクテル ハフツング) 21. 8月. 1992 (2  
1. 08. 92)

文献3には免疫測定用担体に、免疫反応物質を結合し、界面活性剤によりブロックングした免疫測定用固相が記載されている。

担体に表面が疎水性材料を用いることは当業者にとって自明である。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。PCT規則70.16, 70.17)

 出願時の国際出願書類

- |                          |                    |        |                      |
|--------------------------|--------------------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> | 明細書 第 _____        | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
|                          | 明細書 第 _____        | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
|                          | 明細書 第 _____        | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの       |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲 第 _____      | 項、     | 出願時に提出されたもの          |
|                          | 請求の範囲 第 _____      | 項、     | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
|                          | 請求の範囲 第 _____      | 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
|                          | 請求の範囲 第 _____      | 項、     | 付の書簡と共に提出されたもの       |
| <input type="checkbox"/> | 図面 第 _____         | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの          |
|                          | 図面 第 _____         | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
|                          | 図面 第 _____         | ページ/図、 | 付の書簡と共に提出されたもの       |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 第 _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
|                          | 明細書の配列表の部分 第 _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
|                          | 明細書の配列表の部分 第 _____ | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの       |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
- PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
- 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- この国際出願に含まれる書面による配列表
- この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
- 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
- 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
- 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
- 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ
- 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項
- 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5.  この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 99PF187-PCT	FOR FURTHER ACTION	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/JP99/03427	International filing date (day/month/year) 25 June 1999 (25.06.99)	Priority date (day/month/year)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 33/552, 33/551, 33/543		
Applicant	KYOWA MEDEX CO., LTD.	

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.
<input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).  These annexes consist of a total of _____ sheets.
3. This report contains indications relating to the following items:
I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report
II <input type="checkbox"/> Priority
III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention
V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited
VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application
VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 25 June 1999 (25.06.99)	Date of completion of this report 10 March 2000 (10.03.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

## I. Basis of the report

## 1. With regard to the elements of the international application:\*

 the international application as originally filed the description:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

 the claims:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19)

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

 the drawings:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

 the sequence listing part of the description:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

## 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

 the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)). the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)). the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

## 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

 contained in the international application in written form. filed together with the international application in computer readable form. furnished subsequently to this Authority in written form. furnished subsequently to this Authority in computer readable form. The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished. The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4.  The amendments have resulted in the cancellation of: the description, pages \_\_\_\_\_ the claims, Nos. \_\_\_\_\_ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_5.  This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	10-13	YES
	Claims	1-9,14-17	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

## Claims 1-9

Document 1: JP, 4-279664, A (Rhone Poulenc Chim), 5 October, 1992 (05.10.92)

Document 2: JP, 4-356527, A (Rhone Poulenc Chim), 10 December, 1992 (10.12.92)

Document 1 describes an organopolysiloxane as a carrier for immunoassay, and document 2 describes an organohydrogenopolysiloxane.

A coated substrate is considered to be obvious to a person skilled in the art.

## Claims 10-13

A substrate that is made of glass, quartz or ceramic or is porous is neither described in any of the documents cited in the ISR nor obvious to a person skilled in the art.

## Claims 14-17

Document 3: JP, 4-232858, A (Boehringer Mannheim GmbH), 21 August, 1992 (21.08.92)

Document 3 describes a solid phase for immunoassay, in which an immunoreactant is bonded to a carrier for immunoassay and blocked by a surfactant.

Using a material hydrophobic on the surface as a carrier is considered to be obvious to a person skilled in the art.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001年1月4日 (04.01.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
**WO 01/01145 A1**

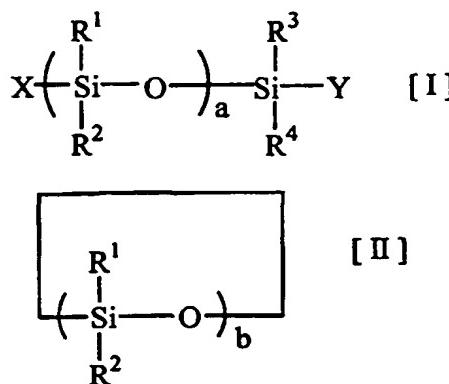
- (51) 国際特許分類<sup>6</sup>: G01N 33/552, 33/551, 33/543
- (21) 国際出願番号: PCT/JP99/03427
- (22) 国際出願日: 1999年6月25日 (25.06.1999)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 協和メデックス株式会社 (KYOWA MEDEX CO., LTD.) [JP/JP]; 〒104-0042 東京都中央区入船二丁目1番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 熊沢俊明 (KUMAZAWA, Toshiaki) [JP/JP]; 田上浩明 (TAGAMI, Hiroaki) [JP/JP]; 木谷孔保 (KIYA, Yoshiyasu) [JP/JP]; 〒192-0031 東京都八王子市小宮町51 株式会社エスアールエルハ王子ラボラトリ一内 Tokyo (JP); 横浜裕明 (YOKOHAMA, Hiroaki) [JP/JP]; 森秀治 (MORI, Hideharu) [JP/JP]. 松森繁 (MATSUMORI, Shigeru) [JP/JP]; 〒411-0932 静岡県駿東郡長泉町南一色字上山地600番1 協和メデックス株式会社 協和メデックス研究所内 Shizuoka (JP).
- (74) 代理人: 弁理士 谷川英次郎 (TANIGAWA, Hidejiro); 〒102-0072 東京都千代田区飯田橋4丁目5番12号 岩田ビル6階 谷川国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(国内): AU, BG, BR, CA, CN, CZ, HU, ID, IL, IN, KR, MX, NO, NZ, PL, RO, SG, SI, SK, UA, US, VN, ZA.
- (84) 指定国(広域): ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

添付公開書類:  
— 國際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: IMMUNOASSAY SUPPORTS AND IMMUNOASSAY SOLID PHASES WITH THE USE THEREOF

(54) 発明の名称: 免疫測定用担体及びそれを用いた免疫測定用固相



(57) Abstract: Novel supports for immunoassay which are usable regardless of the glass fiber composition and can establish an improved assay sensitivity compared with a case wherein a publicly known immunoassay support comprising glass fiber is employed. The above supports comprise, at least on the surface thereof, silicon compounds represented by general formula (I) or (II); wherein R<sup>1</sup> to R<sup>4</sup>, X and Y independently represent each hydrogen or an optionally substituted organic group; a is an integer of 0 to 5,000; and b is an integer of 3 to 20.

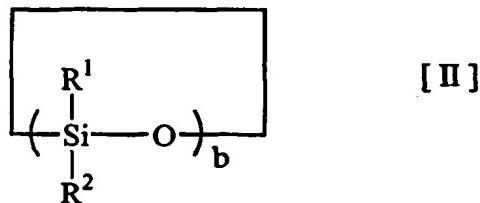
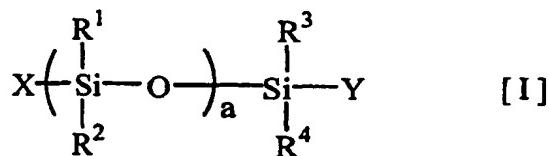
WO 01/01145 A1

[続葉有]



(57) 要約:

ガラス繊維の組成にかかわりなく適用可能であり、かつ、ガラス繊維を用いた、公知の免疫測定用担体を用いた場合よりも測定感度を高くすることができる、新規な免疫測定用担体が開示されている。本発明の免疫測定用担体は、少なくとも表面が下記式 [I] 又は [II] で示されるケイ素化合物から成る。



(ただし、式[I]及び[II]において、R<sup>1</sup>ないしR<sup>4</sup>ならびにX及びYはそれぞれ独立して水素又は置換若しくは非置換の有機基を示し、aは0～5000の整数を示し、bは3～20の整数を示す。)

## 明細書

### 免疫測定用担体及びそれを含む免疫測定用固相

#### 技術分野

本発明は、免疫測定用担体及びそれを含む免疫測定用固相に関する。

5

#### 背景技術

従来より、抗原や抗体を免疫測定法により測定することが広く行なわれており、中でも固相の担体を用いる方法が広く用いられている。免疫測定法で用いる固相担体としては、ポリスチレン製のビーズや、マイクロプレートのウェル等が通常用いられている。

10

しかしながら、ポリスチレン製のビーズや、マイクロプレートのウェル等に抗原や抗体等の免疫反応性物質を固相化して行う従来の免疫測定方法では、免疫反応のためにおよそ30から180分、標識抗体との反応もおよそ30から180分必要であり、かなり時間がかかる。また、BF分離の際に用いる洗浄液は1000から10000μlと多量の洗浄液を必要とする。

15

また、抗体測定系において、標識体に特異抗体を用いた場合、非特異吸着の影響が少ない測定系を組むことは可能であるが、各項目で共通に使用できる抗ヒトIgG抗体を標識体として、各種感染症等の抗体測定系を組む場合、血清由來のIgGの非特異吸着が大きい。

20

また、特定の組成を有するガラス纖維から成る担体を用いることにより、免疫測定の時間を従来よりも大幅に短縮でき、かつ、用いる洗浄液や検体の量も従来よりも少なくすることができる事が知られている（特開平10-104237号）。しかしながら、この方法では、ガラス纖維の組成に制限がある。また、この方法よりもさらに測定感度が向上すれば、好ましいことは言うまでもない。

#### 発明の開示

25

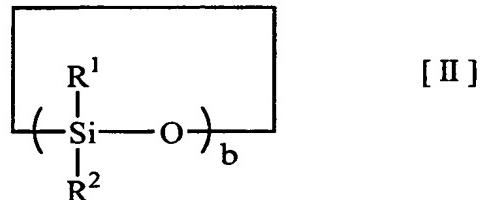
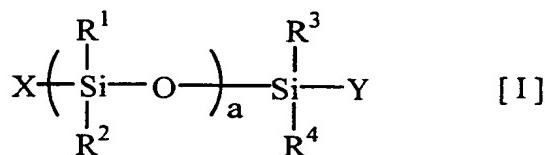
従って、本発明の目的は、ガラス纖維の組成にかかわりなく適用可能であり、かつ、ガラス纖維を用いた、公知の免疫測定用担体を用いた場合よりも測定感度を高くすることができる、新規な免疫測定用担体を提供することである。

さらにまた、本発明の目的は、例えば血清由來のIgG等の非特異吸着を効果

的に防止することができる、免疫測定用固相を提供することである。

本願発明者らは、鋭意研究の結果、担体の少なくとも表面を特定のケイ素化合物で形成した免疫測定用担体を用いることにより、免疫測定の感度を大幅に向上させることができ、ひいては固相化する高価な免疫反応性物質の量を大幅に減少させても所期の測定感度が得られることを見出し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は、少なくとも表面が下記式 [I] 又は [II] で示されるケイ素化合物から成る免疫測定用担体を提供する。



(ただし、式[I]及び[II]において、R<sup>1</sup>ないしR<sup>4</sup>ならびにX及びYはそれぞれ独立して水素又は置換若しくは非置換の有機基を示し、aは0～5000の整数を示し、bは3～20の整数を示す。)

また、本願発明者らは、鋭意研究の結果、免疫測定用担体の少なくとも表面を疎水性材料で形成し、さらに、ブロッキング剤として両親媒性物質を用いることにより非特異的吸着を大幅に低減することができることを見出し本発明を完成した。

すなわち、本発明は、少なくとも表面が疎水性材料である免疫測定用担体に、免疫反応性物質を結合し、露出している前記疎水性材料を両親媒性物質で被覆することによりブロッキングして成る免疫測定用固相を提供する。

本発明により、少なくとも表面が特定のケイ素化合物で形成された新規な免疫測定用担体及びそれを用いたリガンドの固相化方法が提供された。本発明によれば、表面を特定のケイ素化合物で形成することにより、従来の担体に比較して免疫測定の感度が有意に高まり、また、同程度の測定感度を得るためにには固相化す

るリガンドの量を有意に減少できるという効果が奏される。さらに、上記ケイ素化合物で処理した表面は、界面活性剤、特にポリオキシエチレンソルビタンアルキルエステルのような非イオン界面活性剤を極めて吸着しやすいので、このような界面活性剤を用いてブロッキングを行うことができるという効果も奏される。

5 従来の免疫測定用担体のブロッキングは、BSAやゼラチン等のタンパク質を用いて行われているが、これらの生物由来タンパク質を用いるよりも界面活性剤を用いる方がコスト面や試薬の保存の面で有利である。また、マイクロタイターブレートのウェルやビーズを担体として用いる従来の免疫測定法と比較すると、本発明によれば、従来よりも短い時間で免疫測定を行うことができ、また、用いる洗浄液や検体の量も従来より少なくすることができる。

10 15 さらに、本発明によれば、表面が疎水性材料から成り、かつ、両親媒性物質でブロッキングされた新規な免疫測定用固相が提供された。この免疫測定用固相は、従来の免疫測定用固相に比較して非特異的吸着を大幅に抑制することができ、従って測定精度が高い。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明に用いられるケイ素化合物は、上記式[I]又は[II]で示される構造を有する。上記式[I]又は[II]において、R<sup>1</sup>ないしR<sup>4</sup>ならびにX及びYはそれぞれ独立して水素又は置換若しくは非置換の有機基を示し、aは0～5000の整数を示し、bは3～20の整数を示す。R<sup>1</sup>ないしR<sup>4</sup>はそれぞれ独立して水素又は炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアルコキシル基又はフェニル基であり、X及びYはそれぞれ独立して水素、シラノール基、炭素数1～6のアルコキシル基又はアミノ基であることが好ましい。この範疇に属する特に好ましいケイ素化合物として、ジアルキルポリシロキサン(特にジメチルポリシロキサン)及びその片方又は両方の端部がシラノール基、炭素数1～6のアルコキシル基又はアミノ基である変性ジアルキルポリシロキサン(特に変性ジメチルポリシロキサン)を挙げることができる。また、前記式[I]において、aが0であり、X、Y、R<sup>3</sup>及びR<sup>4</sup>は、水素又は有機基であるがこれらのうちの少なくとも1つは疎水性有機基である疎水性シランも好ましい。特に、X及びYが互いに独立に水

素、炭素数1～6のアルキル基又は炭素数1～6のアルコキシル基であり、R<sup>3</sup>が炭素数2～30のアルキル基、炭素数2～30のアルケニル基、炭素数2～30のアルコキシル基、フェニル基又は置換フェニル基であり、R<sup>4</sup>が水素、炭素数1～30のアルキル基又は炭素数1～30のアルコキシル基である疎水性シランが好ましい。この範囲に属する特に好ましいケイ素化合物として、トリアルコキシアルキルシラン、特にオクタデシルトリエトキシシラン、ビニルトリエトキシシラン、フェニルトリエトキシシランを挙げることができる。ケイ素化合物の分子量は500～10000程度が好ましい。

本発明の免疫測定用担体は、少なくとも表面が上記のケイ素化合物により形成されているものであり、担体全体を上記ケイ素化合物で形成してもよいが、基体上に前記ケイ素化合物をコーティングすることが簡便で好ましい。この場合、基体は何ら限定されるものではなく、従来より免疫測定に用いられている、例えばマイクロタイタープレートのウェルのような各種の反応容器の内壁、ビーズ状又はメンブレン状等の担体を挙げができる。基体の材質としては、特に限定されず、この分野において広く用いられているポリスチレン等の疎水性ポリマーや無機材料を挙げができるが、特に、ガラス、石英又はセラミックスが好ましく、とりわけガラスが好ましい。また、免疫反応が起きる表面の面積を大きくするために、基体は例えばメンブレン状のような多孔性であることが好ましい。従って、基体としては、ガラス繊維、石英繊維又はセラミックス繊維、とりわけガラス繊維から成るメンブレン状のものが特に好ましい。

基体として用いられるガラス繊維の直径は特に限定されないが、0.1～100μmが適当であり、0.5～2.0μmが好ましい。また、保留粒子径が0.1～10μm程度のものが好ましい。ガラス繊維はどのような形態にあってもよいが、メンブレン状の形態にあるのが利用し易く好ましい。この場合、メンブレンの目付重量は特に限定されないが90～130g/m<sup>2</sup>程度が適当であり、また、厚さも特に限定されないが0.3mmから0.6mm程度が適当である。ガラス繊維を構成するガラスの組成は限定されない。ガラスファイバーメンブレンはいくつか市販されており、市販のガラスファイバーメンブレンを本発明の免疫

測定用担体の基体として好ましく用いることができる。

上記ケイ素化合物による処理は、ガラス繊維等の基体を、上記ケイ素化合物の溶液に浸漬したり、該ケイ素化合物溶液を噴霧し、又は、スピナー等を用いて塗布することにより行うことができる。ケイ素化合物溶液の溶媒としては、ケイ素化合物を溶解できる溶媒であればいずれのものでもよいが、水及び炭素数1～4の低級脂肪族アルコールのような水溶性有機溶媒が好ましい。溶液中のケイ素化合物の濃度は通常0.01～90重量%程度であり、好ましくは0.1～10重量%程度である。処理は、ケイ素化合物溶液が液体である状態を維持できるいずれの温度でも行うことができ、従って、室温で行うのが最も簡便である。

10 処理後、基体を乾燥させる。乾燥は、水溶性有機溶媒の除去が達成されればよく、通常、室温ないし200°Cで5分間ないし120分間程度行うことができる。また、乾燥は乾燥機内で行ってもよいし、室内で行ってもよい。

乾燥後、免疫反応性物質を固相化する。なお、上記ケイ素化合物は撥水性を有するので、免疫反応性物質の固相化を促進するために、固相化に先立ち、水溶性有機溶媒と水とで担体を順次処理することが好ましい。水溶性有機溶媒としては、炭素数1～4の低級脂肪族アルコール(特にエタノール及びプロパノール)、ジメチルホルムアミド及びジメチルスルホキシド並びにこれらの水溶液が好ましい。この処理は、水溶性有機溶媒及び水が液体である状態を維持できるいずれの温度でも行うことができ、従って、室温で行うのが最も簡便である。

20 担体に固相化される免疫反応性物質(以下、「リガンド」ということがある)は、抗原抗体反応を行うことができるあらゆる物質を意味し、抗原及び抗体のみならず、それらの断片、例えばハプテンや抗体のFabフラグメント、F(ab')<sub>2</sub>フラグメント等をも包含する。また、固相化は、リガンドを緩衝液中に溶解した溶液と担体とを接触させることにより行うことができる。この場合、固相化反応は、従来と同様、室温で15分間～2時間程度、4°Cなら一夜程度で行うことができる。また、固相化に用いるリガンド溶液の濃度は、リガンドの種類や測定すべき検体中の物質の種類や濃度に応じて適宜選択することが可能であるが、通常0.5～200μg/ml程度であ

る。

次いで、ブロッキングを行う。ブロッキングは、従来と同様に行うことができる。ブロッキングは、従来と同様、BSA、カゼイン、ゼラチン等のタンパク質を用いて行うことができる。また、ブロッキング剤として界面活性剤のような両親媒性物質を用いることもできる。両親媒性物質を用いることにより、非特異的吸着を大幅に減少させることができ好ましい。また、ブロッキング剤として、生物由来タンパク質を用いるよりも界面活性剤を用いる方がコスト面や試薬の保存の面で有利である。なお、ケイ素化合物の種類によってはBSA等の親水性タンパク質を用いるとうまくブロッキングが行えない場合があるので、このような場合には両親媒性物質又は疎水性タンパク質（例えば雪印乳業社製ブロックエース）を用いる。

両親媒性物質としては、非イオン性、アニオン性、カチオン性、両性の界面活性剤が挙げられる。非イオン性界面活性剤としては、直鎖アルキルポリオキシエチレンエーテル類、ソルビタンーアルキルポリオキシエチレンエーテル類、アルキルフェニルポリオキシエチレンエーテル類があげられる。アニオン性界面活性剤としては、オレイン酸ナトリウム、コール酸ナトリウム、ドデシル硫酸ナトリウム、ジパルミトイロホスファチジン酸、ジパルミトイロホスファチジルセリン、パーソフトEL（日本油脂社製）などが挙げられる。カチオン性界面活性剤としては、カチオンAB（日本油脂社製）などがあげられる。両性界面活性剤としては、リン脂質であるジミリスロイルホスファチジルコリン（DMPC）、ジパルミトイロホスファチジルコリン（DPPC）、ジステアロイルホスファチジルコリン（DSPC）、卵黄ホスファチジルコリンなどがあげられる。

これらの両親媒性物質のうち、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート（商品名Tween 20）、ポリオキシエチレンソルビタンモノパルミテート（商品名Tween 40）、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート（商品名Tween 60）などの親水性基にポリオキシエチレン鎖を有する非イオン性界面活性剤の使用が好ましい。これらの界面活性溶液、好ましくは重量濃度0.1～2%を、例えば直径8mmのガラスフィルタの場合50～150μlを添加

し、室温で数分～24時間程度放置することによりブロッキングが完了する。なお、放置は減圧下で行ってもよい。

なお、ブロッキング剤として両親媒性物質を用いる場合には、担体の表面が上記ケイ素化合物以外の疎水性材料である場合でも、非特異吸着を従来に比べて大幅に抑制することができ、従って、従来よりも高精度に免疫測定を行うことができる。従って、少なくとも表面が疎水性材料である免疫測定用担体に、免疫反応性物質を結合し、露出している前記疎水性材料を両親媒性物質で被覆することによりブロッキングして成る免疫測定用固相も本願発明の範囲に含まれる。この場合、疎水性材料としては、上記したケイ素化合物の他に、ポリスチレンやポリオレフィンのような疎水性ポリマーも含まれる。

本発明の免疫測定用担体は、固相担体を用いて行う免疫測定を行う方法のいずれにも用いることができ、これを用いた免疫測定方法自体は基本的に従来と同様である。すなわち、本発明の免疫測定用担体には、上記のようにリガンドを固相化し、ブロッキングを行う。このようなリガンドを本発明の免疫測定用担体に固相化したものは従来と同様、例えばサンドイッチ法等に用いることができる。

サンドイッチ法に用いる場合、従来と同様、リガンドを固相化した本発明の担体を、上記のようにブロッキング後、検体と反応させる。次いで、担体を洗浄後、第2抗体を反応させ、洗浄後、固相に残っている第2抗体を測定する。第2抗体の測定は、予め第2抗体を酵素、蛍光色素、ビオチン、放射性物質等で標識しておき、これらの標識を検出することにより行うことができる。なお、本発明の免疫測定用担体は、サンドイッチ法に限らず、リガンドを固相化して用いるあらゆる免疫測定に利用可能である。

下記実施例に具体的に示されるように、ガラス繊維を水溶性有機溶媒で処理することにより、免疫測定の感度が有意に上昇し、従って、同じ測定条件で同程度の感度を達成するのに必要なリガンドの量を有意に（例えば1/50～1/100に）減少させることができる。リガンドは高価であるので、リガンドの量を減少できることは大きな利点である。

ケイ素化合物による処理を行うことにより、なぜ免疫測定の感度が向上するの

かは確認されていないが、おそらくケイ素化合物と免疫反応性物質の新和性が高いために、固相化できるリガンドの量が増大することに起因すると推測される。

また、両親媒性物質をブロッキング剤として用いることにより、BSA等をブロッキング剤として用いた固相に比べ、1 g G等の非特異的吸着を1/10以下にすることができる。

### 実施例

以下、実施例により、本発明をより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

#### 実施例 1

##### (1) ガラス纖維担体の処理

市販のガラス纖維メンブレン（アドバンテック社製ガラスファイバーメンブレンGA100、ガラス纖維の直径は0.8 μm～1.5 μm、目付重量は110 g/m<sup>2</sup>、厚さは0.45 mm、サイズは300 mm×200 mm）を0.1重量%ジメチルポリシロキサン（信越化学社製「シリコナライズL-25」）水溶液中に15秒間浸漬し、500 mlの純水で5回洗浄後、120°Cに保たれたオーブンで1時間乾燥させた。直径6 mmのディスク状に切断して、自動免疫測定装置（協和メデックス社製ID-1000）の反応容器内の担体として使用した。

##### (2) C型肝炎ウイルス(HCV)コア抗原の固相化

リガンドを滴下する前処理として、プロパンノール20 μlを滴下、さらに純水を30 μl滴下した。リガンドとして、アミノ酸40個から成るHCVコアペプチドを1 μg/ml又は100 μg/mlの濃度に0.01M PBS(pH7)で調製し、60 μlを滴下、室温で30分間反応させた。続いて、80 μlの10%Tween 20(商品名) 0.01M PBS pH7を滴下、室温で30分間反応させてブロッキングを行った。

##### (3) 免疫測定

他の測定法で抗HCV抗体が陰性又は陽性である血清試料を50倍に希釈し、50 μlを反応させた。反応は室温で2分間行い、続いて洗浄液50 μlで洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗体希釈液50 μlを滴下、室温で2分間反応後、洗

5 淨液 $80\mu\text{l}$ を2回滴下してBF分離を行った。ペルオキシダーゼの基質としてテトラメチルベンジン(TMB)の溶液を $30\mu\text{l}$ 滴下した。上記自動免疫測定装置から $\Delta k/s$ 値を得た。なお、 $\Delta k/s$ 値は、協和メデックス社製ID-1000により測定される値であり、通常の免疫測定法における吸光度にほとんど完全に対応している。従って、以下、 $\Delta k/s$ 値を「吸光度」と記載する。結果を下記表1に示す。

#### 比較例1

10 ジメチルポリシリコサンによる処理を行わなかったことを除き、実施例1と同じ操作を行った。結果を下記表1に示す。

表1

例	検体	リガンド濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	
		1	100
実施例1	陽性	2.135	5.348
	陰性	0.125	0.185
比較例1	陽性	0.213	2.083
	陰性	0.201	0.245

15 表1に示されるように、陽性検体では、実施例1の方が比較例1よりも有意に吸光度が高く、一方、陰性検体では、むしろ実施例1の方が比較例1よりもやや吸光度が低くなっている。従って、実施例1の方が比較例1よりも測定感度が有意に高い。また、リガンドの濃度が $1\mu\text{g}/\text{mL}$ の場合の実施例1における陽性検体の吸光度と、リガンド濃度 $100\mu\text{g}/\text{mL}$ の場合の比較例1における陽性検体の吸光度がほとんど同じであるから、同程度の測定感度を得るために必要なリガンドの量が、実施例1では比較例1の $1/100$ でよい。

#### 実施例2

##### (1) ガラス繊維担体の処理

20 市販のガラス繊維メンブレン(ワットマン社製ガラスファイバーメンブレンGF/D、目付重量は $120\text{g}/\text{m}^2$ 、厚さは $0.68\text{mm}$ 、サイズは $150\text{mm} \times 150\text{mm}$ )を実施例1と同様に $0.1\text{重量\%}$ ジメチルポリシリコサン水溶液

中に 15 秒間浸漬し、500 ml の純水で 5 回洗浄後、120°C に保たれたオーブンで 1 時間乾燥させた。直径 6 mm のディスク状に切断して、自動免疫測定装置（協和メデックス社製 ID-1000）の反応容器内の担体として使用した。

(2) ネイティブ梅毒抗原 (TP) の固相化

リガンドを滴下する前処理として、プロパノール 20 μl を滴下、さらに純水を 30 μl 滴下した。リガンドとして、ネイティブ TP 抗原を 1 μg/ml 又は 100 μg/ml の濃度に 0.01M PBS (リン酸バッファー含有生理食塩水) (pH 7) で調製し、60 μl を滴下、室温で 30 分間反応させた。続いて、80 μl の 10% Tween 20 (商品名) 0.01M PBS pH7 を滴下、室温で 30 分間反応させてブロッキングを行った。

(3) 免疫測定

免疫測定は実施例 1 と全く同様にして行った。結果を下記表 2 に示す。

比較例 2

ジメチルポリシロキサンによる処理を行わなかったことを除き、実施例 2 と同じ操作を行った。結果を下記表 2 に示す。

表 2

例	検体	リガンド濃度 (μg/ml)	
		1	100
実施例 2	陽性	4.265	8.215
	陰性	0.118	0.271
比較例 2	陽性	1.135	3.998
	陰性	0.233	0.267

表 2 に示されるように、陽性検体では、実施例 2 の方が比較例 2 よりも有意に吸光度が高く、一方、陰性検体では、実施例 2 の方が比較例 2 よりも吸光度が低くなっている。従って、実施例 2 の方が比較例 2 よりも測定感度が有意に高い。

また、リガンドの濃度が 1 μg/ml の場合の実施例 2 における陽性検体の吸光度と、リガンド濃度 100 μg/ml の場合の比較例 2 における陽性検体の吸光度がほとんど同じであるから、同程度の測定感度を得るために必要なリガンドの

量が、実施例2では比較例2の約1/100でよい。

### 実施例3、比較例3

GF/Dシート(30×20cm、ワットマン社製)をオクタデシルトリエトキシシラン(信越化学社製、以下、「C18」と表示することがある)0.08%含むアセトン溶液に1時間浸漬した。浸漬したGF/Dシートをステンレス製のトレーにて取り出し、アセトン溶液に浸漬して洗浄した後、減圧乾燥(<5Torr、30°C、24時間)を行った。更に加熱処理(100°C、5時間)を行い、オクタデシルトリエトキシシラン修飾GF/Dフィルターを得た。

該オクタデシルトリエトキシシラン修飾GF/Dフィルターを皮ポンチにより8mm径に割り抜いた後、ID-1000用反応セル(協和メデックス社製)に装着した。次いで50%エタノール溶液70μl、10mMリン酸溶液(pH7)150μlを順次添加した。更に、表3に示す両親媒性物質[1%、10mMリン酸溶液(pH7)]100μlをブロッキング剤として添加した。その後、減圧乾燥(5Torr以下、室温、24時間)を行い測定用セルを作成した。

比較としてオクタデシルトリエトキシシランで修飾しないGF/DフィルターをID-1000用反応セル(協和メデックス社製)に装着した後、表3に示す両親媒性物質で同様に処理して測定用セルを作成した(比較例3)。

この様にして作成した測定用セルの非特異的吸着抑制効果は以下のようにして試験した。検体としては、10mMリン酸(pH7)で2倍に希釈したヒト正常血清を用い、ブランク値をID-1000(協和メデックス社製)にて測定した。

ID-1000に上述の方法で作成した測定用セルをセットし、ブロック液[10mMリン酸緩衝液(pH7.2)]50μl、検体液50μl、洗浄液[10mMリン酸緩衝液(pH7.2)、150mM塩化ナトリウム、0.05%Tween20]50μl、標識液[40mMトリスー塩酸緩衝液(pH7.0)、0.4%牛血清アルブミン、0.2%牛血清、0.2%ウサギ血清、POD(パーオキシダーゼ)標識抗ヒトIgG抗体]50μl、前述の洗浄液100μl(2回)、発色液[25mMクエン酸緩衝液(pH5.0)、0.1% Triton-X100、0.02%過酸化水素、MCDP(10-(N-メチルカルバモイル)-3,

7-ビス(ジメチルアミノ)フェノチアジン] 100 μlを順次添加した。

次いでフィルター表面の反射率(波長660 nm)の変化を積分球により求め  
 $\Delta K/S$  値(Kubelka-Munk式)として算出した。

結果を下記表3に示す。

5

表3

界面活性剤 (SDS 及び BSA 以外は商品名 )	$\Delta K/S$ 値	
	C18 処理 GF/D	未処理 GF/D
Tween-60	0.174	1.925
Brij-56	0.233	1.446
Triton X-100	0.800	3.649
かオソ AB	0.704	2.661
SDS	1.074	2.965
パーソフト EL	0.464	3.309
BSA	*	2.660

\*) BSAの場合、C18処理GF/Dでは親水化効果が不十分なため測定不可

$\Delta K/S$  値は、オクタデシルトリエトキシシラン修飾GF/Dフィルターを両親媒性物質でブロッキングすることにより、単にGF/DフィルターをBSAなどの両親媒性物質でブロッキングする従来の方法に比べ、約1/3~1/10倍に抑制された。

10

15

Tween 60以外の非イオン性界面活性剤、リン脂質等でも同様の効果を得ることが可能である。また、10倍、50倍に希釈したヒト血清溶液を用いた場合も、同様に本処理方法のブランク値は低くなっている。なお、未処理のGF/DフィルターにTween 60等の非イオン性界面活性剤を添加してもブランク値は水溶性タンパク質を添加した場合と同程度であり、非特異吸着抑制効果は低かった。このことから、非特異吸着抑制効果を高めるためには、疎水化した担体に両親媒性物質を添加することが好ましいことがわかる。

#### 実施例4、比較例4 TP (*Treponema pallidum*) 抗体測定

20

実施例3と同様に作製したオクタデシルシラン修飾GF/Dフィルターを1D-1000用の測定用セルに装着した後、50%エタノール溶液70 μl、10 mMリン酸溶液(pH 7) 150 μlを順次添加した。次いでnative-TP抗原(イワキ社製)溶液100 μl(5 μg/ml、pH 7 10 mMリン酸

緩衝液) を添加した。室温にて10分間静置後、両親媒性物質であるT w e e n  
60溶液(1%、pH 7 10mMリン酸緩衝液) 100μlをブロッキング液  
として添加した。更に、乾燥用安定化剤としてトレハロース溶液(2.5%、p  
H 7 10mMリン酸緩衝液) を添加した。その後、減圧乾燥(5 Torr以下、  
室温、24時間)を行い、測定用セルを得た。

比較として、G F／Dフィルターにn a t i v e-T P抗原をB S Aブロッキ  
ングにより固相化したセルを作製した。具体的には8mm径に成形したG F／D  
フィルターを反応セルに装着した後、湿潤液50μl(pH 7 10mMリン酸  
緩衝液)、n a t i v e-T P抗原(イワキ社製)溶液100μl(5μg/m  
l、pH 7 10mMリン酸緩衝液)を順次添加する。室温にて10分間静置し  
た後、B S A溶液50μl(0.1%、pH 7, 50mMリン酸緩衝液、1%ス  
クロース)を添加する。得られたセルの減圧乾燥(5 Torr以下、室温、24  
時間)を行い、比較用の測定用セルを得た(比較例4)。

この2種類の測定用セルを用いID-1000を使用して反応性の比較を行つ  
た。検体には、TP陽性血清(常磐化学社製、TPHA法T i t e r × 5120  
)をヒト正常血清(NHS)(IRVINE社製)で順次希釈して各T i t e r(x  
80(カット オフ相当), x 160, x 320)に相当する血清液を調製し、  
これを検体希釈液で50倍希釈した。測定はID-1000を用いて行い、反応  
セルにブロック液50μl、検体液(血清50倍希釈)50μl、1次洗浄液5  
0μl、標識液50μl(POD-抗ヒトIgG抗体、Jackson社製)、  
2次洗浄液100μl×2回、発色液30μl(U l t r a B l u e T M B,  
INTERGEN社製)を順次添加し、ΔK/S値を算出した。

結果を表4に示す。

表4

試料	B S A保護	C 1 8処理
NHS	1.099	0.086
x 40	1.114	0.120
x 80	1.109	0.184
x 160	1.128	0.294
x 320	1.190	0.606

オクタデシルトリエトキシシラン修飾G F／Dセルでは濃度依存的に $\Delta K/S$ 値が増大し、カットオフ値付近に相当するT i t e r  $\times 80$ の血清の $\Delta K/S$ 値は、ヒト正常血清の $\Delta K/S$ 値に比べ、有意に高値となった。これに対し、比較例4の場合、ヒト正常血清でのブランク値が高く、検出は困難であった。

5      実施例5      ID-1000を用いたTP抗体測定

梅毒TP抗体検出試薬セロディアTP・PA（富士レビオ社）により値付けされたTP陽性血清50種（T i t e r  $\times 80 \sim 20480$ ）、及び陰性血清50種の測定を実施例3と同条件で実施した。得られた $\Delta K/S$ 値は、陽性群（0.5以上）陰性群（0.2以下）で有意に差が見られ、用いた全検体の判別が可能であった。

10     実施例6、比較例5      HCV抗体測定／グループ1、グループ2の判別

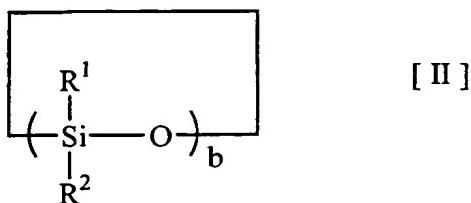
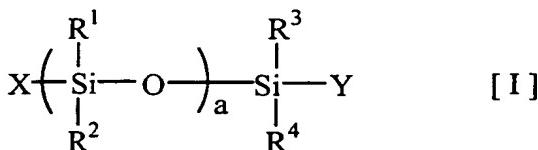
固相化用抗原として合成ペプチド抗原c k k-n 1およびc k k-n 2 (WO 97/08198公報)をそれぞれ10  $\mu g/ml$ とした以外は実施例2と同様に反応用セルを作製した。

15     イムノチェック-HCV Grコクサイ（国際試薬社製）により判別した合成ペプチド抗原c k k-n 1およびc k k-n 2陽性血清（各20検体）を用い、実施例4と同条件にて測定を実施した。

20     シラン処理セルの場合、合成ペプチド抗原c k k-n 1を固相化したセルでは、合成ペプチド抗原c k k-n 1陽性血清の $\Delta K/S$ 値は0.2以上で、合成ペプチド抗原c k k-n 2陽性血清の $\Delta K/S$ 値は0.1以下となり陽性陰性の判別が可能であった。また、合成ペプチド抗原c k k-n 2を固相化したセルでは、合成ペプチド抗原c k k-n 1陽性血清の $\Delta K/S$ 値は0.1以下で、合成ペプチド抗原c k k-n 2陽性血清の $\Delta K/S$ 値は0.2以上となり同様に判別可能であった。これに対し、オクタデシルトリエトキシシラン処理しない反応用セル（比較例5）を用いた場合は、合成ペプチド抗原NS4 c k k-n 1およびc k k-n 2を固相化したセルでは、c k k-n 1およびc k k-n 2陽性血清共、 $\Delta K/S$ 値が0.5以上となり、陽性陰性の判別はできなかった。

## 請求の範囲

1. 少なくとも表面が下記式 [I] 又は [II] で示されるケイ素化合物から成る免疫測定用担体。



5

(ただし、式[I]及び[II]において、R<sup>1</sup>ないしR<sup>4</sup>ならびにX及びYはそれぞれ独立して水素又は置換若しくは非置換の有機基を示し、aは0～5000の整数を示し、bは3～20の整数を示す。)

2. 式[I]又は式[II]において、R<sup>1</sup>ないしR<sup>4</sup>はそれぞれ独立して水素又は炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアルコキシル基又はフェニル基を示し、X及びYはそれぞれ独立して水素、シラノール基、炭素数1～6のアルコキシル基又はアミノ基を示す請求項1記載の免疫測定用担体。

3. 前記ケイ素化合物はジアルキルポリシロキサンである請求項1記載の免疫測定用担体。

4. 前記ジアルキルポリシロキサンは、ジメチルポリシロキサンである請求項3記載の担体。

5. 前記ケイ素化合物は、前記式[I]において、aが0であり、X、Y、R<sup>3</sup>及びR<sup>4</sup>は、それぞれ独立して水素又は有機基であるがこれらのうちの少なくとも1つは疎水性有機基である請求項1記載の担体。

6. X及びYがそれぞれ独立して水素、炭素数1～6のアルキル基又は炭素数1～6のアルコキシル基であり、R<sup>3</sup>が炭素数2～30のアルキル基、炭素数2～30のアルケニル基、炭素数2～30のアルコキシル基、フェニル基又は置換フェニル基であり、R<sup>4</sup>が水素、炭素数1～30のアルキル基又は炭素数1～3

0のアルコキシル基である疎水性シランである請求項5記載の担体。

7. 前記疎水性シランは、アルキルトリアルコキシシラン、ビニルトリアルコキシシラン又はフェニルトリアルコキシシランである請求項6記載の担体。

8. 前記アルキルトリアルコキシシランは、オクタデシルトリエトキシシラン  
5 である請求項7記載の担体。

9. 前記担体は、基体上に前記ケイ素化合物をコーティングしたものである請  
求項1～8のいずれか1項に記載の担体。

10. 前記基体はガラス、石英又はセラミックスである請求項9記載の担体。

11. 前記基体はガラス繊維である請求項10記載の担体。

12. 前記基体が多孔性であり、担体表面が多孔性である請求項9～11記載  
10 の担体。

13. 前記基体はガラス繊維から成るメンブレンの形態にある請求項12記載  
の担体。

14. 少なくとも表面が疎水性材料である免疫測定用担体に、免疫反応性物質  
15 を結合し、露出している前記疎水性材料を両親媒性物質で被覆することによりブ  
ロッキングして成る免疫測定用固相。

15. 前記免疫測定用担体が、請求項1ないし13のいずれか1項に記載の免  
疫測定用担体である請求項14記載の免疫測定用固相。

16. 前記両親媒性物質は界面活性剤である請求項14又は15記載の免疫測  
20 定用固相。

17. 前記界面活性剤は非イオン界面活性剤である請求項16記載の免疫測定  
用固相。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/03427

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>6</sup> G01N33/552, 33/551, 33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>6</sup> G01N33/552, 33/551, 33/543Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1999  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1999 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1999

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 4-279664, A (Rhone Poulenc Chimie), 5 October, 1992 (05. 10. 92) & EP, 436450, A	1-17
Y	JP, 4-356527, A (Rhone Poulenc Chimie), 10 December, 1992 (10. 12. 92) & EP, 435785, A	1-17
Y	JP, 4-232858, A (Boehringer Mannheim GmbH.), 21 August, 1992 (21. 08. 92) & EP, 468481, A	14-17
Y	JP, 6-123739, A (Daikin Industries,Ltd.), 6 May, 1994 (06. 05. 94) (Family: none)	14-17

 Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

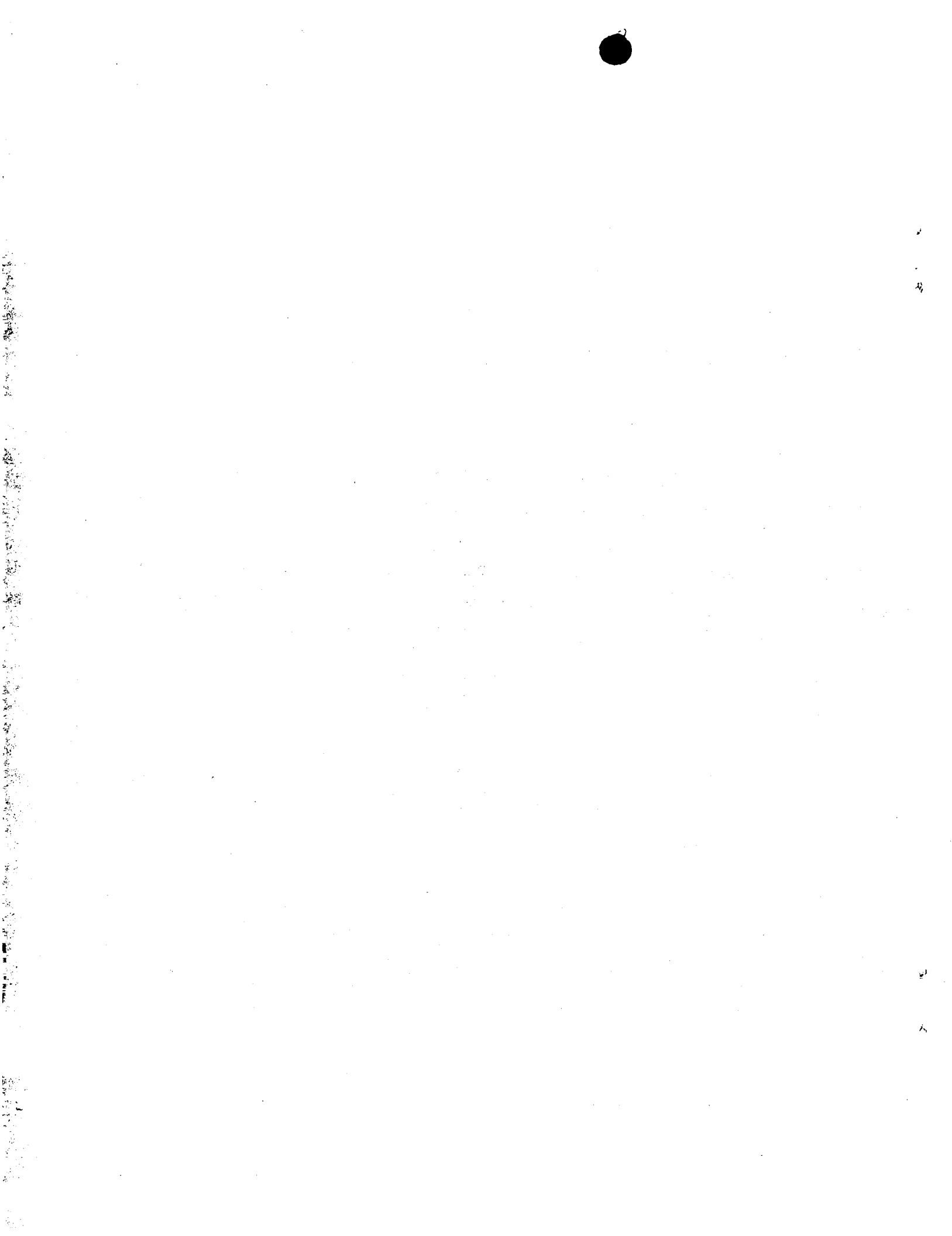
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
---	--

Date of the actual completion of the international search  
27 August, 1999 (27. 08. 99)Date of mailing of the international search report  
7 September, 1999 (07. 09. 99)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office -

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））  
Int. Cl. G01N33/552, 33/551, 33/543

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））  
Int. Cl. G01N33/552, 33/551, 33/543

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-1999年
日本国登録実用新案公報	1994-1999年
日本国実用新案登録公報	1996-1999年

## 国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 4-279664, A (ローヌープーラン・シミ) 5. 10月. 1992 (05. 10. 92) & EP, 436450, A	1~17
Y	J P, 4-356527, A (ローヌープーラン・シミ) 10. 12月. 1992 (10. 12. 92) & EP, 435785, A	1~17
Y	J P, 4-232858, A (ベーリングー マンハイム ゲゼル シャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング) 21. 8月. 1992 (21. 08. 92) & EP, 468481, A	14~17

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 27. 08. 99	国際調査報告の発送日 07.09.99
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ISA/JP） 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 亀田 宏之 印 2 J 9015 電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 6-123739, A (ダイキン工業株式会社) 6. 5月. 1994 (06. 05. 94) (ファミリーなし)	14~17